



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
INGENIERIA FORESTAL

**Capacidad de *Talaromyces australis* y *Penicillium murcianum* para
controlar moho superficial en madera de *Pinus radiata* D. Don**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de
Concepción para otorgar al título profesional de Ingeniero/a Forestal

POR: Carlos Matias Ovalle Constanzo

Profesor Guía: Vicente Hernández Castillo, Ph. D.

Diciembre, 2024

Concepción, Chile

© 2024, Carlos Matias Ovalle Constanzo

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

**CAPACIDAD DE *TALAROMYCES AUSTRALIS* Y *PENICILLIUM*
MURCIANUM PARA CONTROLAR MOHO SUPERFICIAL EN MADERA DE
PINUS RADIATA D. DON**



Profesor Guía

Vicente Andrés Hernández Castillo

Profesor Asociado

Ph D. in Forestry



Profesor Guía

Eugenio Sanfuentes Von Stowasser

Profesor Titular

Ingeniero Forestal, Dr.

DEDICATORIA

A mi familia...

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, amigos y profesores.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. METODOLOGÍA	7
2.1 Hongos empleados en el estudio	8
2.2 Producción y extracción de los pigmentos de <i>P. murcianum</i> y <i>T. australis</i>	8
2.3 Preparación de pigmento a concentraciones conocidas.....	10
2.4 Uso de pigmentos extracelulares contra el desarrollo de <i>T. viride</i>	10
2.5 Evaluación de severidad y área manchada	13
2.6 Bioensayo de <i>T. australis</i> y <i>P. murcianum</i> en la colonización de <i>T. viride</i> en madera de pino radiata.	13
2.7 Diseño experimental y Análisis estadístico.....	14
III. RESULTADOS.....	16
3.1 Efecto de pigmentos extracelulares de <i>T. australis</i> y <i>P. murcianum</i> en el desarrollo superficial de <i>T. viride</i> en madera de pino radiata.....	16
3.2 Uso de <i>T. australis</i> y <i>P. murcianum</i> como posible control biológico contra <i>T. viride</i> en madera de pino radiata.	20
IV. DISCUSIÓN	23
V. CONCLUSIONES	26
VI. GLOSARIO	27
VII. BIBLIOGRAFÍA	28
VIII. APENDICE.....	31
8.1 Apéndice A	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentración de pigmento rojo (<i>Talaromyces australis</i>) y amarillo (<i>Penicillium murcianum</i>) mezclado para la solución final aplicada en las probetas de <i>Pinus radiata</i>	11
---	----

Tabla 2. Descripción de los niveles de colonización evaluados visualmente en las probetas con tratamiento.	13
---	----

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Diagrama del proceso experimental para la evaluación de la capacidad de control de <i>Taramoyces australis</i> y <i>Penicillium murcianum</i> en muestras de madera inoculadas con <i>Trichoderma viride</i>	7
Figura 2. Cámara húmeda para las probetas de madera de <i>Pinus radiata</i> previo a la aplicación de solución con pigmentos e inoculación con <i>Trichoderma viride</i>	12
Figura 3. Porcentaje de colonización de <i>Trichoderma viride</i> en probetas vs. Concentración de pigmentos por tratamiento aplicado. Tendencia obtenido en Design Expert® versión 11.	17
Figura 4. Muestras de madera de <i>Pinus radiata</i> tratadas con diferentes concentraciones de pigmentos amarillos (CPa) y rojos (CPr) después de cuatro semanas de exposición a <i>Trichoderma viride</i> . Las concentraciones de los pigmentos se indican en mg/ml: a) Testigo (sin tratamiento), b) Control con etanol, c) CPa 15, d) CPa 11,25 + CPr 3,75, e) CPa 3,75 + CPr 11,25, f) CPa 15, g) CPa 7,5 + CPr 7,5, h) CPa 5 + CPr 10, i) CPr 15, j) CPa 11,25 + CPr 3,75, k) CPa 10 + CPr 5, l) CPr 15, m) CPa 15, n) CPr 15.	19
Figura 5. Porcentaje de colonización superficial de <i>Trichoderma viride</i> en muestras tratadas con <i>Talaromyces australis</i> y <i>Penicillium murcianum</i> . Barra error indica la menor diferencia significativa (l.s.d.).	21
Figura 6. Probetas de <i>Pinus radiata</i> con tratamiento biocontrol contra <i>Trichoderma viride</i> a: Control, b: <i>Penicillium murcianum</i> , c: <i>Talaromyces australis</i> , d: Mezcla de <i>Penicillium murcianum</i> y <i>Talaromyces australis</i>	22

RESUMEN

Actualmente, existe una creciente necesidad en la industria de encontrar soluciones sostenibles para evitar el crecimiento de mohos en madera de pino radiata. El objetivo del estudio fue evaluar la capacidad protectora de los hongos *Talaromyces australis* y *Penicillium murcianum* contra la colonización superficial de *Trichoderma viride* en madera de *Pinus radiata* bajo condiciones controladas. En el estudio se llevaron a cabo ensayos *in-vitro* siguiendo la norma D4445-10, evaluando la eficacia de los pigmentos extracelulares producidos por los hongos en la inhibición del crecimiento de *T. viride* y además su uso directo sobre la madera. Los resultados mostraron que los pigmentos extracelulares de ambos hongos estadísticamente no presentaron un efecto inhibitorio sobre *T. viride*, sin embargo, su uso directo sobre la madera tuvo la capacidad para inhibir el crecimiento de *T. viride* en madera de pino radiata, siendo más efectivo *T. australis*. Estos hallazgos sugieren que ambos hongos podrían desempeñar un papel como agentes biocontroladores en la protección de la madera, ofreciendo una alternativa prometedora y más ecológica a los tratamientos químicos convencionales.

ABSTRACT

The increasing demand for sustainable solutions to prevent mold growth on *Pinus radiata* wood has driven research into alternative methods of protection. This study aimed to evaluate the protective capacity of the fungi *Talaromyces australis* and *Penicillium murcianum* against the surface colonization of *Trichoderma viride* on *Pinus radiata* wood under controlled conditions. *In-vitro* assays were conducted following the D4445-10 standard, assessing the efficacy of extracellular pigments produced by the fungi in inhibiting *T. viride* growth, as well as their direct application on the wood surface. Results indicated that the extracellular pigments of both fungi did not exhibit statistically significant inhibitory effects against *T. viride*. However, the direct application of the fungi to the wood demonstrated an ability to inhibit *T. viride* growth, with *T. australis* showing greater effectiveness. These findings suggest that *T. australis* and *P. murcianum* could serve as biocontrol agents for wood protection, providing a promising and more environmentally friendly alternative to conventional chemical treatments.

I. INTRODUCCIÓN

En Chile, la industria de la madera aserrada se sustenta desde hace años por el uso del *Pinus radiata* D. Don (pino insigne o pino radiata) alcanzando un 97,2% en la producción nacional, mientras que el resto corresponde a otras especies exóticas o nativas (CONAF, 2021). La producción de madera aserrada es una de las industrias de mayor importancia en el sector forestal nacional, generando 7,9 millones m³ en el año 2022 cuyos destinos son el mercado interno (5,85 millones m³) y las exportaciones (2,01 millones m³) (Alvarez González et al., 2023).

La madera de *P. radiata* es conocida por ser susceptible a los efectos perjudiciales causados por agentes de deterioro biótico y abiótico. Estos agentes pueden incluir organismos como hongos, insectos, bacterias y condiciones ambientales desfavorables, como la humedad y la radiación ultravioleta (Ramírez Farfán, 2017).

De particular interés es el efecto de los hongos o mohos superficiales, cuyas hifas pueden penetrar las paredes de la madera pasando a través de las punteaduras aeroladas y permanecer en las paredes internas, señalando con su presencia condiciones adecuadas para el desarrollo de otros hongos manchadores de albura o del tipo pudrición, los cuales pueden llegar a disminuir las propiedades mecánicas de la madera (Santibañez, 2005). Este tipo de mohos superficiales se

alimentan de la materia albuminoidea y consume minerales acumulados en las células de la madera, pero no ocasionan su destrucción. En su mayoría los mohos superficiales contienen melanina en sus hifas, lo que provoca cambios en la coloración de la madera, en tonos, negros, verdes, azulados, grises y cafés, oscureciendo su tono natural. Aunque afectan la apariencia de la madera, no alteran sus propiedades mecánicas. Es común que el manchado superficial ocurra en el transporte de madera aserrada verde o en el almacenamiento de esta bajo condiciones de humedad prolongados y favorables para el desarrollo de este tipo de hongos (Berroca et al., 2012; Butin & Peredo, 1967; Guerra, 2006; Morrell, 2002).

Este ataque de hongos tiene un impacto significativo en la industria maderera, el cambio en la coloración de la madera es un problema que afecta tanto a trozas como madera aserrada de *P. radiata*, resultando en productos de baja calidad estética y limitando las opciones de mercado, provocando pérdidas económicas para los productores y el comercio maderero en general (Guerra, 2006; Oliva, 1985).

Existen literalmente miles de hongos que pueden aterrizar en una superficie de madera y crecer, algunos degradan los polímeros estructurales de la madera, mientras que otros utilizan azúcares, proteínas u otros compuestos almacenados dentro de la madera. Los mohos que producen esporas pigmentadas en la

superficie de la madera son particularmente problemáticos, ya que estas esporas al desprenderse del conidióforo se pueden transportar fácilmente por el aire y contaminar la madera húmeda, perpetuando un ciclo de crecimiento y esporulación (Morrell & Sanders, 2016). Aunque los mohos superficiales tienen poco efecto en las propiedades estructurales de la madera, algunas especies presentes en las construcciones de madera pueden producir micotoxinas las cuales pueden causar daños a la salud. Estas micotoxinas, aunque sean en niveles bajos, pueden provocar enfermedades o alergias respiratorias que a mediano o largo plazo, resultan perjudiciales para las personas (Kuhn & Ghannoum, 2003; Sáez Alonso, 2019).

El moho también es una preocupación importante en la industria de pallets. La demanda de pallets libres de mohos presenta un desafío significativo para la industria maderera. Los clientes exigen productos que no solo sean funcionales y duraderos, sino también estéticamente agradables y seguros para la salud. Este escenario obliga a los fabricantes de pallets a implementar métodos de prevención y control del moho, como el secado en horno, el tratamiento térmico y la aplicación de fungicidas profilácticos. Sin embargo, estos métodos pueden incrementar los costos de producción y aún no garantizan una protección completa, especialmente cuando los pallets se exponen a condiciones de humedad. La búsqueda de soluciones más sostenibles y efectivas, como el uso de extractos naturales y aceites esenciales, se vuelve crucial para satisfacer la

creciente demanda de pallets libres de mohos sin comprometer la seguridad y la calidad del producto final (Morrell & Sanders, 2016).

Para garantizar la durabilidad y la calidad de la madera de *P. radiata*, se emplean diversos procesos de protección. Las estrategias utilizadas a escala industrial para evitar la mancha azul en madera de *P. radiata* son el riego por aspersión en cancha de acopio, baños anti-mancha de madera aserrada y un pronto secado posterior al aserrío primario. El secado en cámara es el tratamiento más aplicado a la madera aserrada, cubriendo el 51,2% de la producción total de madera en el año 2021. Este proceso se lleva a cabo en condiciones controladas de humedad y temperatura, permitiendo extraer gradualmente la humedad presente en ella. (Poblete Hernández et al., 2022).

Es importante señalar que una la vez la madera se encuentra seca, se minimiza el riesgo de aparición de agentes biológicos y posibles deformaciones estructurales. No obstante, la capacidad de secado de la industria forestal nacional apenas cubre el 50% de la producción de madera aserrada y por lo tanto el 50% restante es susceptible a ser colonizada por mohos y hongos. Para evitar esto se utilizan los baños anti-mancha, que consisten en sumergir las piezas de madera en tinas con productos químicos fungitoxicos. Su principal objetivo es brindar protección contra hongos manchadores y otros agentes ambientales como mohos superficiales y bacterias. Durante el año 2022 este tratamiento fue

aplicado a 2,3 millones de m³, equivalente a un 29,5% de la producción total de madera aserrada del país (Alvarez González et al., 2023).

En las últimas décadas se han estudiado diversos tipos de productos químicos para controlar la colonización fúngica en la madera en baños anti-mancha, hasta la década del 90 se utilizaba el pentaclorofenato de sodio (PCP-Na), pero este producto tenía grandes repercusiones en la salud de los usuarios y graves daños al medioambiente por su lenta biodegradación (Montes et al., 2001). Por tanto fue reemplazado por otros tipos de fenoles clorados, que luego también fueron prohibidos y en la actualidad se utilizan principalmente productos basados oxina de cobre mezclada con fungicidas de tipo orgánico (carbendazima, clorotanolino, tebuconazoles, etc.) (Guerra, 2006), los cuales también han recibido cuestionamientos y especula que sean prohibidos en los siguientes años. En base a lo mencionado anteriormente, surge la necesidad de buscar alternativas de productos que sean de menor toxicidad y con mayor eficiencia en el tratamiento de hongos y mohos superficiales (Gallardo, 2002; García, 1997; Vega Gutierrez et al., 2023).

Para el caso de este trabajo se busca encontrar un método de control para inhibir el desarrollo de mohos superficiales en madera de *P. radiata*, utilizando dos especies de hongos: *Penicillium murcianum* (PM2015) y *Talaromyces australis* (TA2015). Estos hongos, que producen pigmentos de color amarillo y rojo

respectivamente, los cuales han demostrado capacidad inhibitoria del crecimiento de ciertos hongos colonizadores de superficie, como *Trichoderma viride* (Vega Gutierrez et al., 2023). Se plantea como hipótesis que el uso de estos hongos o sus pigmentos extracelulares podrían inhibir la colonización de algunos mohos superficiales de forma de actuar como un control de baja toxicidad para el medio ambiente.

Por lo tanto, esta investigación planteó como objetivo principal evaluar la capacidad protectora de los hongos *T. australis* y *P. murcianum* contra la colonización superficial de *T. viride* en madera de pino radiata en condiciones *in-vitro*. Los objetivos específicos incluyen analizar el uso de los pigmentos extracelulares de *T. australis* y *P. murcianum* para inhibir mohos, y el análisis de estos hongos como agentes biocontroladores aplicados directamente sobre la madera contra la colonización de *T. viride*.

II. METODOLOGÍA

Este trabajo se realizó siguiendo la norma ASTM D4445-10, en que se describe un método para evaluar el manchado de la madera en condiciones de laboratorio (Figura 1).

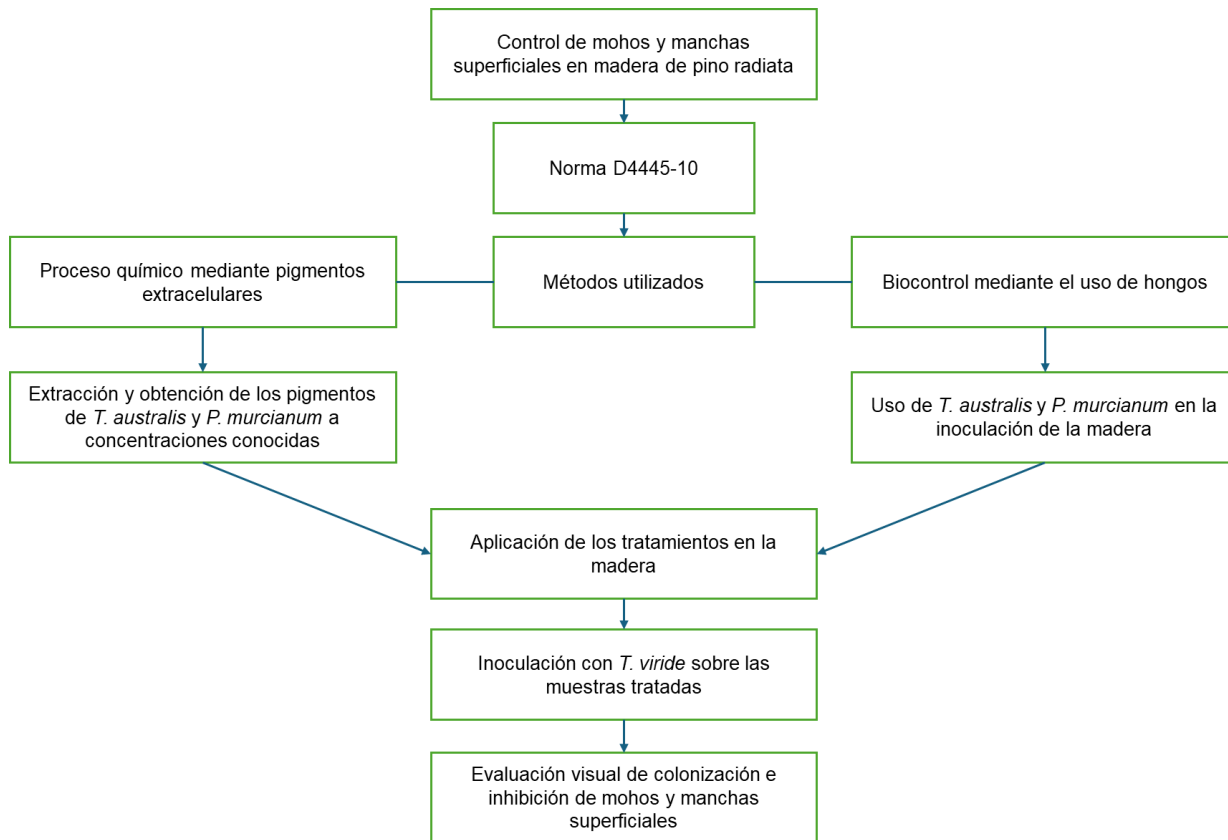


Figura 1. Diagrama del proceso experimental para la evaluación de la capacidad de control de *Taramoyces australis* y *Penicllium murcianum* en muestras de madera inoculadas con *Trichoderma viride*

2.1 Hongos empleados en el estudio

Se utilizó un total de tres hongos en el estudio, dos de estas cepas fueron seleccionadas conforme a su capacidad para producir pigmentos extracelulares con capacidad inhibitoria contra cepas de *Trichoderma* spp (Vega Gutiérrez et al., 2023). Los dos hongos seleccionados para la obtención de pigmentos fueron *Penicillium murcianum* (cepa PM2015) y *Talaromyces australis* (cepa TA2015). Estos hongos se encontraban almacenados en placas de Petri con Agar Extracto de malta (EMA) al 2% a 4°C, en el Laboratorio Silvotecnológico de la Madera (Facultad de Ciencias. Forestales, Universidad de Concepción).

Por otro lado, la cepa de hongo seleccionado como moho superficial fue *Trichoderma viride* (cepa M56). Este hongo se encontraba almacenado en probetas de madera de pino a temperatura ambiente con poca luminosidad.

2.2 Producción y extracción de los pigmentos de *P. murcianum* y *T. australis*

Para producir los metabolitos pigmentados de *T. australis* y *P. murcianum*, ambos hongos se cultivaron individualmente utilizando el mismo procedimiento. El cultivo se realizó en un medio líquido de Extracto de Malta (EMA) al 2% y NaCl al 1%, suplementado con resina Amberlite® XAD-4 al 3% (m/v).

La preparación de la resina Amberlite® XAD-4 consistió en un proceso de lavado y acondicionamiento. Primero, la resina se lavó dos veces con una cantidad proporcional de metanol y se agitó durante 1 h. Luego, se enjuagó seis veces con agua destilada y se dejó reposar en agua destilada a 4 °C por 48 h. Posteriormente, las resinas fueron filtradas con papel Whatman (6 µm de poro) y se secaron a temperatura ambiente durante 48 h adicionales. La resina tratada fue añadida al medio de cultivo líquido de EMA 2% con NaCl 1%, el cual fue esterilizado en autoclave a 121 °C durante 20 min. Tras la esterilización, cada medio fue inoculado por separado con cinco piezas obtenidas con sacabocado, provenientes de un medio sólido de EMA al 2% que contenía porciones activas de los hongos *T. australis* o *P. murcianum* en crecimiento. Los cultivos en medio líquido se mantuvieron en agitación a 110 RPM durante 14 días a temperatura ambiente.

Para extraer el pigmento de la resina, esta fue filtrada con papel Whatman (6 µm) y luego agitada constantemente durante 15 min en 50 ml de etanol absoluto. Posteriormente, fue nuevamente filtrada usando papel Whatman. Este procedimiento de lavado se repitió cuatro veces hasta asegurar la completa extracción del pigmento de las resinas.

2.3 Preparación de pigmento a concentraciones conocidas

Los pigmentos aislados en etanol fueron sometidos a un proceso de secado en un horno a 85 °C, hasta que todo el líquido se evaporó por completo. Este proceso se aplicó a ambos tipos de pigmento, amarillo (obtenido de *P. murcianum*) y rojo (obtenido de *T. australis*), lo cual permitió posteriormente preparar soluciones con una cantidad precisa de gramos de soluto con las cuales tratar la madera.

2.4 Uso de pigmentos extracelulares contra el desarrollo de *T. viride*

Se utilizaron probetas de madera de albura de pino radiata en estado verde, las cuales tenían una dimensión de 10x20x70 mm. Cada muestra fue tratada con distintas concentraciones de pigmentos, sin contar el control son 12 tratamientos los cuales cuentan con hasta tres repeticiones (Tabla 1). Cada probeta fue tratada mediante un baño por inmersión, agitadas continuamente durante 90 segundos en tubos Falcon, asegurando un baño completo del pigmento en toda la superficie de muestra. La preparación de los tubos Falcon se llevó a cabo utilizando 35 ml de una solución con concentraciones de pigmento, procurando alcanzar 15 mg/ml de solución ya sea de un solo tipo de pigmento o mezclado. En cuanto al control, consistió en la aplicación de etanol 95°.

Tabla 1. Concentración de pigmento rojo (*Talaromyces australis*) y amarillo (*Penicillium murcianum*) mezclado para la solución final aplicada en las probetas de *Pinus radiata*.

N° tratamiento	Pigmento Amarillo (TA) (mg/ml)	Pigmento Rojo (PM) (mg/ml)
Control	-	-
1	15	-
2	11.25	3.75
3	3.75	11.25
4	15	-
5	7.5	7.5
6	5	10
7	-	15
8	11.25	3.75
9	10	5
10	-	15
11	15	-
12	-	15

Posteriormente, cada probeta se depositó en una placa de Petri con un papel absorbente en la base y una malla sobre el papel, los cuales fueron esterilizados previamente (Figura 2). Las placas fueron humectadas con 1 ml de agua destilada estéril, previo al depósito de las probetas, luego se dejaron en reposo durante 48 horas para evitar la lixiviación del pigmento al momento de inocular las muestras.

Para la inoculación de las probetas, se hizo una recolección de material fúngico desde muestras de madera con un alto grado de colonización por *T. viride*. El material fúngico recolectado fue depositado en un tubo Falcon con agua estéril, siendo agitado para liberar las esporas y/o micelio, y mediante el método de diluciones seriadas se determinó una concentración de 6320 UFC/mL en la dispersión fúngica. Después del periodo de reposo, las muestras de madera fueron inoculadas con 2 mL de esta dispersión de *T. viride* por medio de una micropipeta, procurando una distribución homogénea sobre la superficie y permitiendo que las gotas filtraran en las caras transversales.



Figura 2. Cámara húmeda para las probetas de madera de *Pinus radiata* previo a la aplicación de solución con pigmentos e inoculación con *Trichoderma viride*.

2.5 Evaluación de severidad y área manchada

Luego de inocular las probetas, en las semanas 2 y 4 se estimó visualmente el crecimiento de *T. viride* y empleándose una escala del 0 al 5 (Tabla 2). La estimación se basa en el porcentaje de colonización y la decoloración en todas las superficies de la probeta, tomando como referencia la utilizada en la norma ASTM D4445-10.

Tabla 2. Descripción de los niveles de colonización evaluados visualmente en las probetas con tratamiento.

Puntuación	Descripción de la colonización
0	Superficie de la madera sin rastros de colonización ni manchado
1	Superficie de la madera con indicios de colonización
2	Superficie de madera colonizada con manchado menor al 25%
3	Superficie de madera colonizada con manchado menor al 50%
4	Superficie de madera colonizada con manchado menor al 75%
5	Superficie colonizada y manchada casi en su totalidad.

2.6 Bioensayo de *T. australis* y *P. murcianum* en la colonización de *T. viride* en madera de pino radiata.

En este ensayo se utilizaron 12 probetas de pino radiata (10x20x70 mm), las cuales fueron separadas en cuatro grupos. En una placa de Petri de 150 mm se preparó una cámara húmeda con toalla de papel y una malla previamente esterilizados, para luego disponer las muestras de madera. Se utilizaron cultivos

líquidos de *T. australis* y *P. murcianum* para inocular las probetas. Además, se realizó una mezcla entre ambos inóculos en una proporción 1:1, como un tercer tratamiento. La inoculación se realizó por inmersión de las probetas en los medios de cultivo con los tratamientos de interés (inmersión en tubos Falcon de 50 mL, 60 s con agitación continua). El proceso se repitió para los tres tratamientos, posteriormente las muestras se mantuvieron en reposo por 48 horas para favorecer la colonización de los hongos.

De forma similar a lo realizado en el punto 2.4 se inoculó las probetas con *T. viride*. Las evaluaciones fueron realizadas a la segunda y cuarta semana del ensayo, de acuerdo con la metodología de la norma ASTM D4445-10.

2.7 Diseño experimental y Análisis estadístico

Se prepararon dos experimentos para verificar, primero el efecto de los pigmentos productos por *T. australis* y *P. murcianum* sobre el porcentaje de manchado en muestras de pino radiata y en segundo lugar el efecto de ambos hongos como biocontroladores sobre la misma variable respuesta. En el primer experimento se consideró un diseño de mezcla aleatoria simple Lattice con 12 corridas, en el cual la concentración de pigmentos mezclados (rojo + amarillo) varió entre 0 y 15 mg/mL. Los resultados obtenidos fueron evaluados por medio

de un análisis de varianza con un nivel de significancia de 0.05. En el segundo experimento se consideró un diseño factorial completamente aleatorio con 12 corridas y 4 categorías de tratamiento (hongo 1, hongo 2, mezcla de hongos y control), como respuesta se consideró el porcentaje de área manchada y los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza, como en el caso anterior. Las diferencias estadísticas significativas entre los diferentes tratamientos fueron detectadas aplicando el test de menor diferencia significativa de Fisher (l.s.d.), mostrada como barra de error en las respectivas imágenes de resultados. Los datos obtenidos de ambos experimentos fueron procesados en el software Design-Expert® versión 11.

III. RESULTADOS

3.1 Efecto de pigmentos extracelulares de *T. australis* y *P. murcianum* en el desarrollo superficial de *T. viride* en madera de pino radiata

Los resultados obtenidos al finalizar el experimento de exposición de la madera tratada con los pigmentos no mostraron un ajuste significativo al modelo lineal propuesto para evaluar su efecto inhibitorio sobre la colonización de *T. viride*. El *p-valor* de 0,1436 indica que no se verificó diferencias estadísticamente significativas, lo que indica que los pigmentos y sus mezclas no demostraron una inhibición del hongo en las condiciones de este experimento.

Los tratamientos con los pigmentos *T. australis* y *P. murcianum* no tuvieron efecto en reducir la colonización superficial de *T. viride* comparado con el control, aunque se constató una tendencia a reducir el nivel de colonización del moho cuando se aumentó la concentración del pigmento amarillo (Figura 3). En el caso de los controles, aunque no fueron tratados con pigmentos, el crecimiento de moho no alcanzó un nivel óptimo que permitiera una comparación adecuada con las probetas que si fueron tratadas con los pigmentos, donde en algunos casos desarrollo de moho fue mayor. Esta limitación en las probetas control podría atribuirse al exceso de humedad presente en las muestras durante las etapas

iniciales del ensayo y/o a la presencia inadvertida de porciones de duramen en la madera, las cuales se sabe que dificultan el crecimiento óptimo de mohos superficiales. Estas condiciones probablemente afectaron la validez estadística de los resultados.

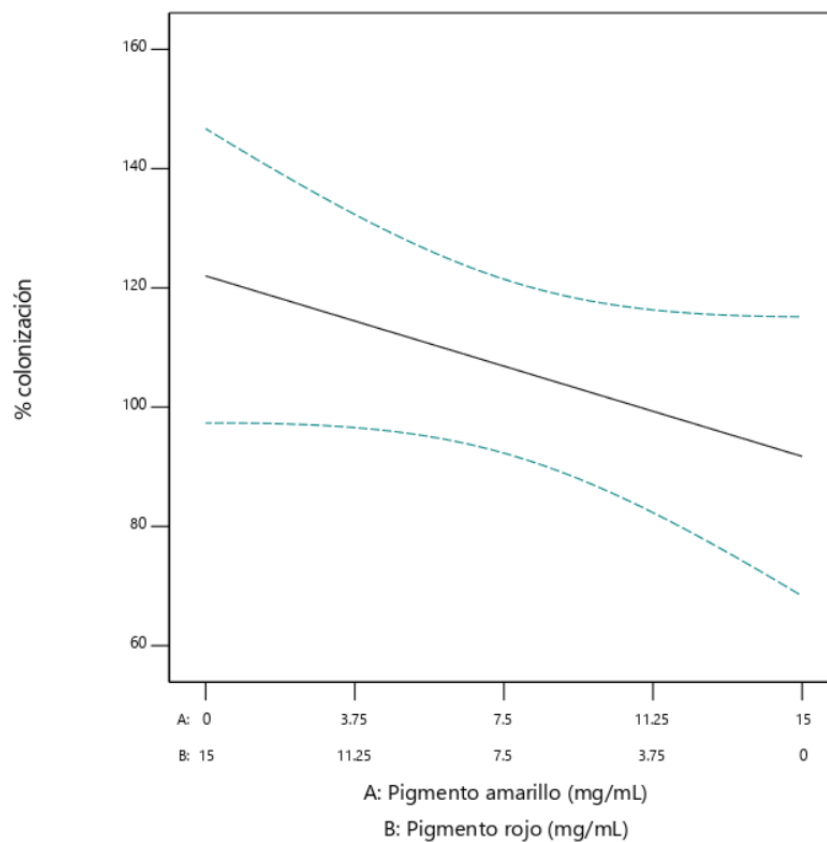


Figura 3. Porcentaje de colonización de *Trichoderma viride* en probetas vs. Concentración de pigmentos por tratamiento aplicado. Tendencia obtenido en Design Expert® versión 11.

En la muestra control (Figura 4a) alcanzó el nivel 3 de la escala visual utilizada (Ver Apéndice A). En algunos casos donde se utilizó una mayor concentración de pigmento rojo (Figura 4i, 4l o 4n), se alcanzaron valores similares o superiores a la muestra control, con valores entre 3 y 4, indicando que el uso de este pigmento no resulta optimo en la inhibición del moho. Para el caso de las muestras que se utilizó mayor concentración de pigmento amarillo (Figura 4c, 4k o 4m) se tuvo una mejor respuesta al inhibir visualmente el crecimiento de *T. viride*, en la cual se midió máximo con un nivel 2 de la escala utilizada de porcentaje de colonización superficial en las probetas de madera. Aunque visualmente se observó una tendencia de *P. murcianum* a inhibir la colonización del patógeno, los resultados no son concluyentes debido a la falta de significancia estadística.

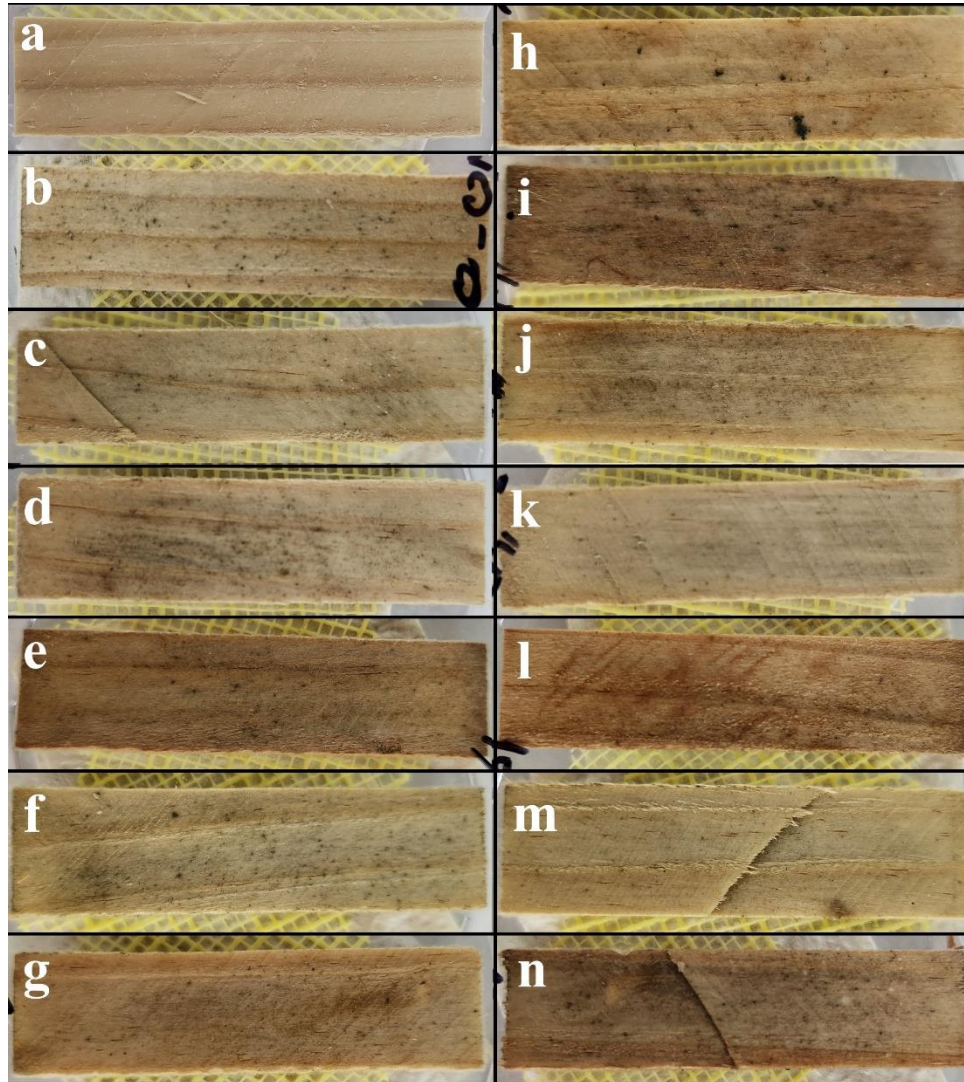


Figura 4. Muestras de madera de *Pinus radiata* tratadas con diferentes concentraciones de pigmentos amarillos (CPa) y rojos (CPr) después de cuatro semanas de exposición a *Trichoderma viride*. Las concentraciones de los pigmentos se indican en mg/ml: a) Testigo (sin tratamiento), b) Control con etanol, c) CPa 15, d) CPa 11,25 + CPr 3,75, e) CPa 3,75 + CPr 11,25, f) CPa 15, g) CPa 7,5 + CPr 7,5, h) CPa 5 + CPr 10, i) CPr 15, j) CPa 11,25 + CPr 3,75, k) CPa 10 + CPr 5, l) CPr 15, m) CPa 15, n) CPr 15.

3.2 Uso de *T. australis* y *P. murcianum* como posible control biológico contra *T. viride* en madera de pino radiata.

Se constató un efecto altamente significativo ($p=0.0001$) de los hongos *T. australis*, *P. murcianum* y sus combinaciones, en la inhibición del desarrollo de *T. viride* en madera de pino radiata.

En la muestra control la colonización de *T. viride* fue mayor a todas las muestras tratadas con los hongos (Figura 5), siendo los tratamientos con *T. australis* y la mezcla de *T. australis* con *P. murcianum* las que obtuvieron los menores valores de colonización sin diferencias significativas, alcanzando entre un 0-5% de colonización en la superficie de las probetas. Por otra parte, en las muestras tratadas con *P. murcianum*, presentan moho superficial que opaca su superficie (Figura 6a), que es provocado por el hongo *T. viride*. En las muestras tratadas con *T. australis* y aquellas donde este hongo predominó mostraron manchas rojizas superficiales que aparentemente inhibieron a *T. viride* (Figuras 6c y 6d). La presencia de estas manchas rojizas es un resultado no esperado del tratamiento, y no está claro que este tipo de manchado pueda ser aceptable por parte de potenciales usuarios de *T. australis*.

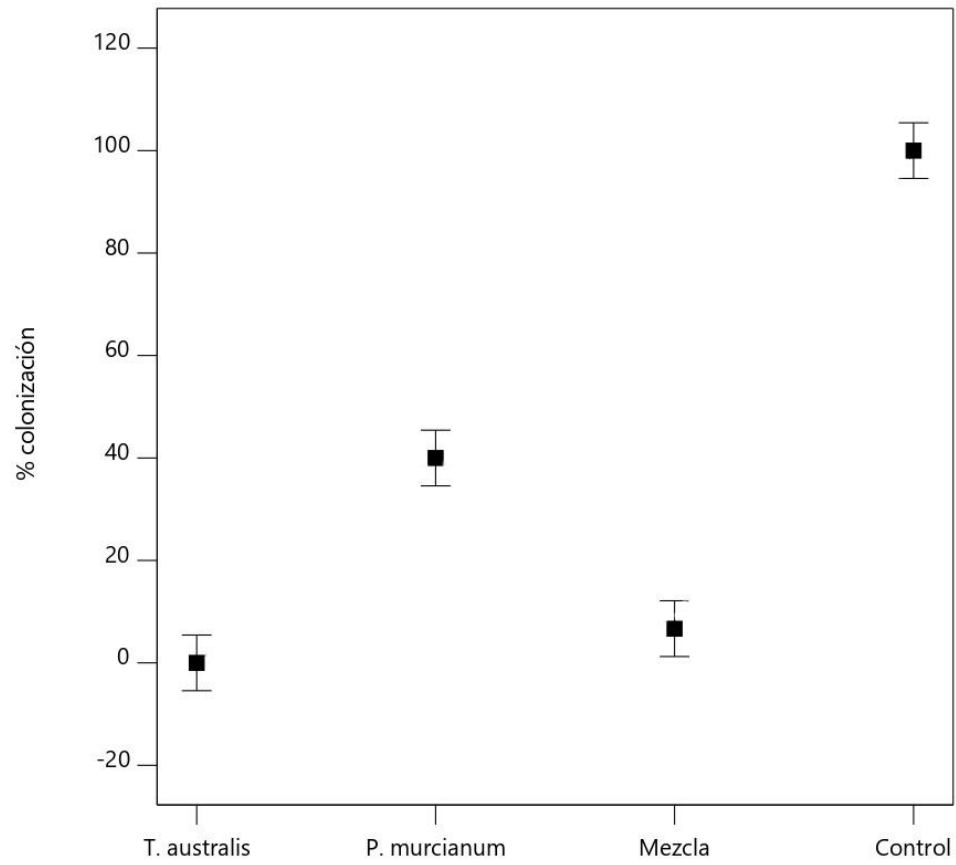


Figura 5. Porcentaje de colonización superficial de *Trichoderma viride* en muestras tratadas con *Talaromyces australis* y *Penicillium murcianum*. Barra error indica la menor diferencia significativa (l.s.d.).

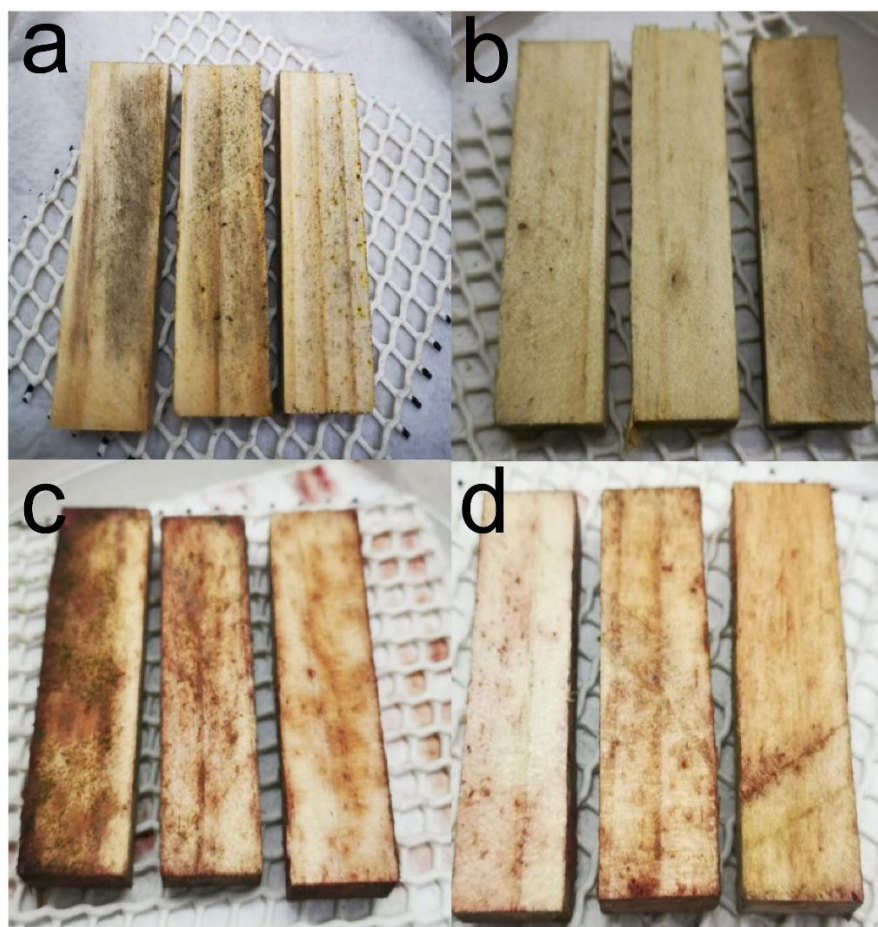


Figura 6. Probetas de *Pinus radiata* con tratamiento biocontrol contra *Trichoderma viride* a: Control, b: *Penicillium murcianum*, c: *Talaromyces australis*, d: Mezcla de *Penicillium murcianum* y *Talaromyces australis*

IV. DISCUSIÓN

Los resultados presentados de este estudio indican que los hongos *P. murcianum* y *T. australis* poseen una capacidad para inhibir la colonización superficial del moho *T. viride* en madera de pino radiata en condiciones controladas, siendo el método más efectivo el uso de estos hongos como agentes biocontroladores. Por otro lado, el uso de los pigmentos extracelulares obtenidos de los hongos no mostró resultados que estadísticamente comprobaran su capacidad inhibitoria en condiciones *in-vitro*.

La capacidad inhibitoria observada puede atribuirse a los metabolitos secundarios producidos por *T. australis* y *P. murcianum*, los cuales, según diversas investigaciones sobre las actividades químicas fúngicas son capaces de inhibir otros agentes biológicos (Lei et al., 2022). Esta propiedad es conocida como antibiosis y dentro de las cepas antagonistas estudiadas es la más común, siendo posiblemente el mecanismo principal utilizado para inhibir a *T. viride*. Por otro lado, es posible que la inhibición también se pueda dar por competencia al colonizar antes las muestras de madera (Zhao et al., 2022).

En cuanto a los resultados obtenidos del experimento con pigmentos extracelulares, no se puede afirmar con certeza si los pigmentos de color rojo y amarillo inhiben la colonización de *T. viride*. El estudio realizado por Vega

Gutierrez et al. (2023), demostró que el uso del pigmento amarillo producido por *P. murcianum* es efectivo en bajas concentraciones para la inhibición de hongos y mohos superficiales. Esta característica antifúngica de los pigmentos se relaciona con su estructura química, que incluye compuestos bioactivos como las quinonas. Estas moléculas son conocidas por su capacidad para generar especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que les confiere propiedades oxidantes capaces de dañar componentes celulares de otros organismos. En estudios previos, se identificaron metabolitos específicos como la monascina y la monashexenona en *P. murcianum*, y la athrorosina H y el damnacantal en *T. australis*. Estos compuestos no solo presentan propiedades antifúngicas, sino que también han demostrado actividad antioxidante significativa, lo que amplía su potencial aplicación en el biocontrol y otros campos como la preservación de materiales (Contreras et al., 2022) . A futuro, será crucial investigar el efecto de estos pigmentos de forma individual contra otras cepas de hongos o mohos superficiales que afecten las propiedades de la madera, tales como manchadores de albura u hongos de pudrición.

Cabe destacar que el uso de pigmentos extracelulares ofrece una alternativa viable a los productos altamente tóxicos para el medio ambiente, según investigaciones en el campo de la textilería, estos demuestran que son de baja toxicidad y por lo tanto, pueden ser utilizados como un método de control de mohos (Hernández et al., 2019). Sin embargo, presenta varios desafíos en su

producción, ya que no solo implica que sea un proceso costoso y tardío, sino que también conlleva un alto riesgo de contaminación del producto debido al manejo y procesamiento del material fúngico.

Por otro lado, se abre la oportunidad de investigar la efectividad como un control biológico de *T. australis* y *P. murcianum* en condiciones naturales o con muestras de madera a una escala mayor que en laboratorio, evaluando así su efectividad en un escenario más cercano a la realidad.

V. CONCLUSIONES

El uso de pigmentos extracelulares de *T. australis* y *P. murcianum* no mostró resultados para comprobar su capacidad de inhibir la colonización de *T. viride* en madera de pino radiata, sugiriendo el reestudio de este producto.

El uso de *T. australis* y la mezcla de ambos hongos fue altamente eficaz en reducir la colonización superficial de *T. viride* en madera de pino radiata en condiciones controladas como un agente de biocontrol.

VI. GLOSARIO

1. UFC: Unidades Formadoras de Colonia
2. EMA: Medio de cultivo de Extracto de Malta
3. Quinonas: Clase de compuestos orgánicos derivados de los hidrocarburos aromáticos, caracterizados por tener un anillo bencénico con dos grupos cetona ($C=O$) en posiciones opuestas del anillo.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez González, V., Poblete Hernández, P., Soto Aguirre, D., & Pardo, V. (2023). La Industria del Aserrío 2022.
- Astorga-Quirós, K., Meneses-Montero, K., Zúñiga-Vega, C., Brenes-Madriz, J. A., & Rivera-Méndez, W. (2014). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Revista Tecnología en Marcha*, 27(2), ág. 82-91.
- Berroca, A., Navarrete, J., & Oviedo, C. (2012). Efecto de diferentes condiciones de crecimiento en el dimorfismo levadura-micelio de la cepa albina PcF2A29 de la especie *Ophiostoma piceae*. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 14(1), 91-102.
- Butin, H., & Peredo, H. (1967). Mancha en madera de especies nativas y sus agentes causales. *Actas de las Terceras Jornadas Forestales, trabajo*, 31, 77-79.
- CONAF. (2021). Revista Chile Forestal N°398. *Chile Forestal*, 66.
- Contreras, P., Avello, M., Pastene, E., Machuca, Á., Aranda, M., Hernández, V., & Fernández, M. (2022). Chemical characterization and microencapsulation of extracellular fungal pigments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(24), 8021-8034.
- Gallardo, C. A. A. (2002). Determinación de la eficacia en laboratorio de una pintura en mezcla con preservante antimancha, para madera aserrada de *Pinus radiata*.

García, A. (1997). Control biológico bajo condiciones óptimas de laboratorio de hongos manchadores de madera de *Pinus radiata* presentes en Chile.

Guerra, C. A. S. (2006). *Mejoras técnicas en el proceso industrial de baño antimancha para madera aserrada verde empaquetada de pino insignie*. Universidad Austral de Chile]. Valdivia, Chile.

Hernández, V. A., Machuca, Á., Saavedra, I., Chavez, D., Astuya, A., & Barriga, C. (2019). *Talaromyces australis* and *Penicillium murcianum* pigment production in optimized liquid cultures and evaluation of their cytotoxicity in textile applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35, 1-9.

Kuhn, D. M., & Ghannoum, M. A. (2003). Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: infectious disease perspective. *Clinical microbiology reviews*, 16(1), 144-172.

Lei, L.-R., Gong, L.-Q., Jin, M.-Y., Wang, R., Liu, R., Gao, J., Liu, M.-D., Huang, L., Wang, G.-Z., & Wang, D. (2022). Research advances in the structures and biological activities of secondary metabolites from *Talaromyces*. *Frontiers in Microbiology*, 13, 984801.

Montes, P., Peredo, H., Lanfranco, D., Ide, S., & Dolz, H. (2001). Una revisión de los productos alternativos al pentaclorofenato de sodio y bromuro de metilo utilizados en el sector forestal. *bosque*, 22(1), 85-93.

Morrell, J. J. (2002). Molds: how can you protect your operation from them?

Morrell, J. J., & Sanders, D. (2016). Control of stain and mold fungi on red alder pallet stock. *Forest Products Journal*, 66(7-8), 467-471.

- Oliva, M. O. (1985). *Ceratocystis pilifera*, hongo causante de mancha azul en madera de *Pinus radiata*. *bosque*, 6(2), 116-119.
- Poblete Hernández, P., Gysling Caselli, J., Alvarez González, V., Bañados, M., Carlos, J., Kahler González, C., Pardo, V., Soto Aguirre, D., & Baeza Rocha, D. (2022). Anuario forestal 2022.
- Ramírez Farfán, Á. F. (2017). Comportamiento al biodeterioro de madera de pino radiata (*Pinus radiata* D. Don) tratado con cobre-azol (CA-B), contra hongos de pudrición y termita subterránea.
- Sáez Alonso, S. (2019). *Evaluación de la calidad del aire interior en relación a los contaminantes biológicos-hongos y mohos-proliferados en Cooperativas de Vivienda de construcción tradicional en Montevideo, Uruguay* [Universidad Nacional de La Plata].
- Santibañez, J. A. T. (2005). "Efecto del almacenamiento prolongado en la madera de *Pinus radiata* D. Don sobre el proceso kraft".
- Vega Gutierrez, P., Hernández, V. A., Sagredo, N., & Robinson, S. C. (2023). Colorants Produced by *Penicillium murcianum* Are a Natural Moldicide against *Trichoderma* and Other *Penicillium* Species. *Coatings*, 12(6), 821.
- Zhao, X., Hou, D., Xu, J., Wang, K., & Hu, Z. (2022). Antagonistic activity of fungal strains against *Fusarium* crown rot. *Plants*, 11(3), 255.

VIII. APENDICE

8.1 Apéndice A

Tabla (A.1) ANOVA para el testeo de mezcla de pigmentos en la inhibición de *Trichoderma viride*

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	P-value	
Model	1091.35	1	1091.35	2.52	0.1436	Not singnificant
⁽¹⁾ Linear Mixture	1091.35	1	1091.35	2.52	0.1436	
Residual	4332.47	10	433.25			
Lack of Fit	840.9	5	168.18	0.2408	0.9279	Not singnificant
Pure Error	3491.56	5	698.31			
Cor Total	5423.82	11				

Tabla (A.2) ANOVA para el porcentaje de manchado por *Trichoderma viride* en muestras de madera de *Pinus radiata* tratadas con *Talaromyces australis* y *Penicillium murcianum*

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	P-value	
Model	18800	3	6266.6	188	< 0.0001	singnificant
A-Tratamiento	18800	3	6266.6	188	< 0.0001	
Pure Error	266.67	8	33.33			
Cor Total	19066.67	11				

Tabla (A.3) Resultados obtenidos visualmente de las muestras de madera inoculadas con *Trichoderma viride* tratadas con pigmentos de *Talaromyces australis* y *Penicillium murcianum*

Muestra	Tratamiento	Semana 2	Semana 4
Control	Control	1	3
1	1	0	2

2	2	1	2
3	3	0	3
4	4	0	3
5	5	0	2
6	6	1	3
7	7	1	4
8	8	0	3
9	9	0	2
10	10	0	3
11	11	0	2
12	12	0	2
